

Search: (JP2003116454)/PN/XPN



1 / 1

Patent Number: JP2003116454 A 20030422

**METHOD FOR BAKING BREAD HAVING EXCELLENT TASTE, AND BREAD DOUGH AND BREAD**

(JP2003116454)

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a method for baking bread having excellent flavor, having good body and deliciousness when eaten, and having excellent taste without needing a special medium for culturing a lactic bacterium and a special freezing equipment for baking bread.





**SOLUTION:** Lactobacillus sakei JCM1157, a low-temperature growing lactic bacterium, or Leuconostoc mesenteroides JCM1564, a low-temperature growing lactic bacterium belonging to the genus Leuconostoc is used for breadmaking. This makes it possible that bread having excellent flavor, having good body and deliciousness when eaten, and having excellent taste is easily manufactured without needing a special medium for culturing of a lactic bacterium or a special freezing equipment for producing bread.

COPYRIGHT: (C)2003,JPO

**Inventor(s):** MORI HARUHIKO  
ONISHI HIROSHI  
OKADA HISASHI  
KAJITANI TAKASHI  
TAKAGI SEIICHI

**Patent Assignee:** KANEGAFUCHI CHEMICAL IND  
TAKAKI BAKERY KK

**Orig. Patent Assignee:** TAKAKI BEEKARII:KK; KANEGAFUCHI CHEM IND CO LTD

FamPat family	Publication Number	Kind	Publication date	Links	
	JP2003116454	A	20030422		
	STG:	Doc. Laid open to publ. Inspec.			
	AP:	2001JP-0316325 20011015			
	JP3643068	B2	20050427		
	STG:	Grant. Pat. With A from 2500000 on			

**Priority Details:** 2001JP-0316325 20011015

©Questel

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-116454

(P2003-116454A)

(43) 公開日 平成15年4月22日 (2003. 4. 22)

(51) Int.Cl.

識別記号

F I

サーチト\* (参考)

A 2 1 D 8/04

A 2 1 D 8/04

4 B 0 3 2

13/00

13/00

審査請求 有 請求項の数14 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願2001-316325(P2001-316325)

(22) 出願日 平成13年10月15日 (2001. 10. 15)

特許法第30条第1項適用申請有り 平成13年4月15日  
財団法人日本醸造協会発行の「日本醸造協会誌 第96巻  
第4号」に発表

(71) 出願人 591146099

株式会社クカキペーカリー

広島県広島市安芸区中野東3丁目7番1号

(71) 出願人 000000941

鎭淵化学工業株式会社

大阪府大阪市北区中之島3丁目2番4号

(72) 発明者 森 治彦

京都府京都市山科区御陵封ジ山町2-270

(72) 発明者 大西 博司

広島県広島市南区本浦町31-7

(74) 代理人 100074561

弁理士 柳野 隆生

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 風味の良好なパン類の製造方法並びにパン生地及びパン類

(57) 【要約】

【課題】 乳酸菌の培養に特殊な培地やパンの生産時に特殊な冷蔵設備が不要で、香りが良く、食したときにコクとうま味のある風味の良好なパン類を容易に製造できる方法を提供する。

【解決手段】 低温生育乳酸菌ラクトバチルス・サケアイ (Lactobacillus sakei) JCM1157株、またはロイコノストック・メッセンテロイデス (Leuconostoc mesenteroides) JCM1564株等の低温生育ロイコノストック属乳酸菌を製パン時に用いることにより、乳酸菌の培養に特殊な培地やパンの生産時に特殊な冷蔵設備が不要で、香りが良く、食したときにコクとうま味のある風味の良好なパン類を容易に製造できる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 パン類の製造工程において、“きもと”由来の低温生育乳酸菌を生地に加えてなり、前記低温生育乳酸菌が、穀物粉、水及び前記低温生育乳酸菌湿菌体からなるパン生地を15～25℃、好ましくは20℃、18時間以上発酵させた時に、生地中に総遊離アミノ酸量を8000マイクロモル/kg以上、遊離のLグルタミン酸量を1000マイクロモル/kg以上、または遊離の疎水性アミノ酸量を5000マイクロモル/kg以上とせしめる能力を有する低温生育乳酸菌であることを特徴とするパン類の製造方法。

【請求項2】 穀物粉、水、“きもと”由来の低温生育乳酸菌湿菌体からなるパン生地が、強力粉66.7重量部、ライ麦粉33.3重量部、水53重量部、低温生育乳酸菌湿菌体2重量部からなる生地であることを特徴とする請求項1に記載のパン類の製造方法。

【請求項3】 パン類の製造工程において、“きもと”由来の低温生育乳酸菌を生地に加えてなり、前記低温生育乳酸菌が、穀物粉、水、前記低温生育乳酸菌湿菌体からなるパン生地をあらかじめ15～25℃、好ましくは20℃、8時間以上発酵させた種生地10～40重量部に、酵母とその他の副素材を加えてミキシングし、25℃2時間乃至4時間発酵させた時に、生地中の遊離のLグルタミン酸量を600マイクロモル/kg以上とせしめる能力を有する低温生育乳酸菌であることを特徴とするパン類の製造方法。

【請求項4】 穀物粉、水、“きもと”由来の低温生育乳酸菌湿菌体からなるパン生地が、強力粉100重量部、水50重量部、低温生育乳酸菌の湿菌体の30重量%懸濁液1重量部からなる生地であることを特徴とする請求項3に記載のパン類の製造方法。

【請求項5】 “きもと”由来の低温生育乳酸菌がラクトバチルス・サケアイ (*Lactobacillus sakei*)、ロイコノストック・メッセンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*) 及びロイコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*) からなる群のうちの1種以上の乳酸菌であることを特徴とする請求項1～4のいずれかに記載のパン類の製造方法。

【請求項6】 低温生育乳酸菌がラクトバチルス・サケアイ (*Lactobacillus sakei*)、ロイコノストック・メッセンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*)、ロイコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*) 及びラクトバチルス・クルバタス (*Lactobacillus curvatus*) からなる群のうちの1種以上の乳酸菌であることを特徴とする請求項1～4のいずれかに記載のパン類の製造方法。

【請求項7】 “きもと”由来の低温生育乳酸菌を用い、穀物粉、水及び前記低温生育乳酸菌湿菌体からなるパン生地を15～25℃、好ましくは20℃、18時間以上発酵させ、生地中に総遊離アミノ酸量を8000マ

イクロモル/kg以上、遊離のLグルタミン酸量を1000マイクロモル/kg以上、または遊離の疎水性アミノ酸量を5000マイクロモル/kg以上とするパン生地。

【請求項8】 穀物粉、水、“きもと”由来の低温生育乳酸菌湿菌体からなるパン生地が、強力粉66.7重量部、ライ麦粉33.3重量部、水53重量部、低温生育乳酸菌湿菌体2重量部からなる生地であることを特徴とする請求項7に記載のパン生地。

【請求項9】 “きもと”由来の低温生育乳酸菌を用い、穀物粉、水、前記低温生育乳酸菌湿菌体からなるパン生地をあらかじめ15～25℃、好ましくは20℃、8時間以上発酵させた種生地10～40重量部に、酵母とその他の副素材を加えてミキシングし、25℃2時間乃至4時間発酵させ、生地中の遊離のLグルタミン酸量を600マイクロモル/kg以上とするパン生地。

【請求項10】 穀物粉、水、“きもと”由来の低温生育乳酸菌湿菌体からなるパン生地が、強力粉100重量部、水50重量部、低温生育乳酸菌の湿菌体の30重量%懸濁液1重量部からなる生地であることを特徴とする請求項9に記載のパン生地。

【請求項11】 “きもと”由来の低温生育乳酸菌がラクトバチルス・サケアイ (*Lactobacillus sakei*)、ロイコノストック・メッセンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*) 及びロイコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*) からなる群のうちの1種以上の乳酸菌であることを特徴とする請求項7～10のいずれかに記載のパン生地。

【請求項12】 低温生育乳酸菌がラクトバチルス・サケアイ (*Lactobacillus sakei*)、ロイコノストック・メッセンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*)、ロイコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*) 及びラクトバチルス・クルバタス (*Lactobacillus curvatus*) からなる群のうちの1種以上の乳酸菌であることを特徴とする請求項7～10のいずれかに記載のパン生地。

【請求項13】 請求項1～6のいずれかに記載の方法で製造されたパン類。

【請求項14】 請求項7～12のいずれかに記載のパン生地を焼成してなるパン類。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は香りが良く、食したときにコクとうま味のある風味の良好なパン類の製造方法、パン生地及びパン類に関する。

【0002】

【従来の技術】 昨今製パン業界では、風味や食感が従来品と異なり差別化された商品が伸び、従来の標準的な品質のものは次第に淘汰されるという現象がおきている。一般的な中種法で生産されるあまり特徴のないパンは次

第に消費者から飽きられ、風味や食感などで差別化された特徴のあるパンが囑望されている。特に風味で差別化する方法としては、0～15℃程度の低温で発酵させる低温長時間種法や0℃～氷結点（通常パン生地の場合は-7℃～-10℃前後）までの間で発酵させる氷温発酵法、さらに、食感の改善にも寄与するが、生地を2度混捏するリミックス法、小麦粉を一旦熱湯で混捏した湯種を用いる湯種法など例挙にいとまがない。しかし、これらの方法は風味や食感の改良には効果があるが、例えば低温長時間種法や氷温発酵法では大量の生地を低温で保存する必要があるため、大規模な冷蔵設備を要し、リミックス法は生地が弱めになるため機械耐性に問題があった。湯種法は熱湯を使用する必要があるため、安全性や混捏後の生地の冷却に冷蔵庫が必要であるなど多くの問題があった。

【0003】また、遊離アミノ酸は遊離のLグルタミン酸のようにそれ自体にうま味があるし、また、プロリン、アラニン、バリン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、チロシン、フェニルアラニンからなる遊離の疎水性アミノ酸は、例えばロイシンはイソamilアルコールの前駆体であり、バリンはイソブチルアルコールの前駆体であるように高級アルコール類の前駆体となる物質であり、パン生地中に多量に存在せしめることによって酵母の発酵で高級アルコール類の生成に貢献して風味の改善効果があることからパンの風味改善に有効な手段ではあった。しかし、従来、遊離アミノ酸をパン生地中に生成せしめる方法としては、例えば氷温発酵法を用いて通常の発酵温度では酵母によって資化されてしまう遊離アミノ酸を低温下で発酵を抑制することで酵母による資化をおさえる方法（ジャパンフードサイエンス、p. 30, Vol. 5, 1987）などが知られているだけであり、氷温発酵法には前述の様な課題があるため、安価で簡便な方法で生地中の遊離アミノ酸量を高める方法は知られていなかった。

【0004】更に、例えば、「製パンプロセスの科学」（光琳、1991）p. 157に記載されている通り、乳酸菌とパンとの関係は主にサワー種を用いたサワーブレッドについて研究が進んでおり、サワー種から分離された乳酸菌として、ラクトバチルス・ブレビス（*Lactobacillus brevis*）、ラクトバチルス・プラントラム（*Lactobacillus plantarum*）、ラクトバチルス・ファーマンタム（*Lactobacillus fermentum*）、ラクトバチルス・デルブルッキー（*Lactobacillus delbrueckii*）、ラクトバチルス・ライヒマニ（*Lactobacillus leichmani*）、ラクトバチルス・カゼイ（*Lactobacillus casei*）、ラクトバチルス・パストリアヌス（*Lactobacillus pastorianus*）、ラクトバチルス・ブヒネリ（*Lactobacillus buchnerii*）、ラクトバチルス・サンフランシスコ（*Lactobacillus sanfranciscensis*）、ラクトバチルス・フルクティボランス（*Lactobacillus fructi-*

*vorans*）、ラクトバチルス・クルバタス（*Lactobacillus curvatus*）、ラクトバチルス・ルテリ（*Lactobacillus ruteri*）、ラクトバチルス・ヒルガルディ（*Lactobacillus hilgardii*）、ラクトバチルス・コモエンシス（*Lactobacillus comoensis*）が記載されているが、これら従来のサワー種は生地のpHが下がりすぎて酸味が強くなりすぎ、酵母発酵が抑制されたり、生地の損傷が認められた。また逆に酵母発酵が旺盛となりすぎて乳酸菌の生育が抑制された。また、例えばラクトバチルス・サンフランシスコ（*Lactobacillus sanfranciscensis*）などは非常に特殊な培地でないと生育しないため、安定的に培養することが困難であるなどの欠点があった。

【0005】また、乳酸菌を用いることで生地中の総遊離アミノ酸が増大することも知られており、例えばジャーナル・オブ・フード・サイエンス（Volume 63, No. 2, 1998, p. 347）にはラクトバチルス・サンフランシスコ（*Lactobacillus sanfranciscensis*）とラクトバチルス・プラントラム（*Lactobacillus plantarum*）が、ジャーナル・オブ・フード・サイエンス（Volume 59, No. 4, 1994, p. 881）にはラクトバチルス・ブレビス（*Lactobacillus brevis*）とラクトバチルス・プラントラム（*Lactobacillus plantarum*）が、それぞれタンパク質分解酵素の活性が高く、生地中で遊離アミノ酸が生成される記載があるが、これらの菌株は従来のサワー種由来の菌種であるため、やはり上述のような欠点があった。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、乳酸菌を用いてパン類の風味を改善するに際し、用いる乳酸菌の培養に特殊な培地やパンの生産時に特殊な冷蔵設備が不要な、香りが良く、食したときにコクとうま味のある風味の良好なパン類を容易に製造できる方法、パン生地及びパン類を提供することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、パンの風味を改善する安価で簡便な方法を確立するために生地中の総遊離アミノ酸に注目し、鋭意研究を進めた結果、“きもと”由来の低温生育乳酸菌が生地中での遊離アミノ酸量を増大する現象を見出して本発明を完成させた。

【0008】即ち、本発明は、低温生育乳酸菌、ラクトバチルス・サケイ（*Lactobacillus sakei*）、またはロイコノストック・メッセンテロイデス（*Leuconostoc mesenteroides*）等のロイコノストック属の乳酸菌を製パン時に用いることを特徴とする。ラクトバチルス・サケイ（*Lactobacillus sakei*）等は、従来のサワー種から分離される乳酸菌と異なり、我が国の伝統的清酒醸造で醸される“きもと”から分離された菌種であり、5℃という低温で生育可能な低温生育能や強い生酸能に特徴がある。

【0009】本発明では、生地中での遊離アミノ酸量を増大させる低温生育乳酸菌をパンの製造工程において生地中に加える。本発明で用いる低温生育乳酸菌は、強力粉66.7重量部、ライ麦粉33.3重量部、水53重量部、低温生育乳酸菌湿菌体2重量部からなるパン生地を15～25℃、好ましくは20℃、18時間以上発酵させた時に、生地中に総遊離アミノ酸量を8000マイクロモル/kg以上、遊離のLグルタミン酸量を1000マイクロモル/kg以上、または遊離の疎水性アミノ酸量を5000マイクロモル/kg以上とせしめる能力を有し、更には、強力粉100重量部、水50重量部、低温生育乳酸菌の湿菌体の30重量%懸濁液1重量部からなるパン生地をあらかじめ15～25℃、好ましくは20℃、8時間以上発酵させた種生地10～40重量部に、酵母とその他の副素材を加えてミキシングし、25℃2時間乃至4時間発酵させた時に、生地中の遊離のLグルタミン酸量を600マイクロモル/kg以上とせしめる能力を有する低温生育乳酸菌である。

【0010】前記低温生育乳酸菌としては、“きもと”由来の低温生育乳酸菌であるラクトバチルス・サケアイ (*Lactobacillus sakei*)、ロイコノストック・メッセンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*) 及びロイコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*)、あるいはラクトバチルス・クルバタス (*Lactobacillus curvatus*) 等を用いることができる。

【0011】本発明では低温生育乳酸菌、特にラクトバチルス・サケアイ (*Lactobacillus sakei*) またはロイコノストック・メッセンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*)、ロイコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*) に属する乳酸菌を用いるが、従来はこれらをパンに用いる方法はほとんど知られていなかった。なお、ラクトバチルス・サケアイ (*Lactobacillus sakei*) は旧名をラクトバチルス・サケ (*Lactobacillus sake*) といい、同義である (INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY, July 1997, p.908)。

【0012】ラクトバチルス・サケアイ (*Lactobacillus sakei*) をパンに用いる例としては、例えば特開2000-189041、特開2001-204376が挙げられるが、前者はサワーブレッドの製造方法に関するものであり、本発明とは目的が異なるし、後者も生地の改良を主目的としており目的が異なる。特表平8-504578、特開2001-97870にみられるようにラクトバチルス・サケアイ (*Lactobacillus sakei*) 類菌株の生産する菌体外多糖類を生地のせん断性の改良目的でパンに添加する例や胆汁酸の吸着を目的にパンに添加する例があるが、これらもいずれも本発明とは目的を異にする。またいずれの例でも、本発明の目的とする生地中の遊離アミノ酸に関する記載はない。

【0013】

【発明の実施の形態】本発明では、低温生育乳酸菌とし

てラクトバチルス・サケアイ (*Lactobacillus sakei*)、ロイコノストック・メッセンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*)、ロイコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*) 及びラクトバチルス・クルバタス (*Lactobacillus curvatus*) 等を用いる。前記低温生育乳酸菌ラクトバチルス・サケアイ (*Lactobacillus sakei*) 等は、一般的な乳酸菌の培養方法で培養される。前記低温生育乳酸菌としては、例えば理化学研究所微生物系統保存施設 (JAPAN COLLECTION OF MICROORGANISMS) に登録・保存されているラクトバチルス・サケアイ (*Lactobacillus sakei*) JCM1157株、JCM1128株、ロイコノストック・メッセンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*) JCM1564株、ロイコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*) JCM9698株、ラクトバチルス・クルバタス (*Lactobacillus curvatus*) JCM1096株等を用いることができる。

【0014】用いる培地は例えばMRS培地 (DIFCO社製)、BCP加プレートカウントアガール (日水製薬 (株) 製)、25%米麹汁改変培地 (Brix10% 麹汁25%、酵母エキス0.5%、ポリペプトン1%、グルコース2%、肉エキス1%、酢酸ナトリウム0.5%、リン酸水素2カリウム及びクエン酸3ナトリウム各0.2%) などが用いられる。25%米麹汁改変培地の場合、培地10mlに植菌後30℃、24時間培養を行い、同培地800mlに移植し、30℃、48時間静置培養を行う。この培養液を4℃、10,000rpm、10分遠心分離後、殺菌済み冷生理食塩水で水洗を行って、湿菌体を得る。

【0015】この湿菌体はこのまま用いても良いし、適宜殺菌済みの脱脂粉乳10%液や生理食塩水に懸濁して用いても良い。低温での静置乾燥や、凍結乾燥を行って粉末状態にして用いることも可能であるし、このときには、Lグルタミン酸ナトリウムや脱脂粉乳などの乾燥保護剤を用いることも可能である。乾燥工程を経なくても、脱脂粉乳やデンプン、小麦粉などの粉末と混合して粉末化してもよい。

【0016】上記乳酸菌のパン生地への添加は、製パン工程のミキシング工程で添加すれば生地中に均一に分散できる。一般的な中種法の場合、中種でも本発明でも添加が可能である。

【0017】本発明で用いるラクトバチルス・サケアイ (*Lactobacillus sakei*)、ロイコノストック・メッセンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*)、ロイコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*) 及びラクトバチルス・クルバタス (*Lactobacillus curvatus*) 等の低温生育乳酸菌は、上記のようにパン生地に添加して発酵させることで、生地中の遊離アミノ酸量を増大させる。これらの低温生育乳酸菌の菌株の特性は、酵母と共存させない場合、強力粉66.7重量部、ライ麦

粉33、3重量部、水53重量部、本菌株の湿菌体2重量部からなる生地を20℃で捏ね上げ、15～25℃、好ましくは20℃で18時間以上発酵させた生地中の遊離のアミノ酸含量を測定することで明らかになり、生地中の総遊離アミノ酸量を8000マイクロモル/kg以上、遊離のLグルタミン酸量を1000マイクロモル/kg以上、または遊離の疎水性アミノ酸量を5000マイクロモル/kg以上とせしめる。また、酵母と共存させる場合は、例えば、強力粉100重量部、塩2重量部、水65重量部、酵母2重量部、モルト1重量部に、強力粉100重量部、水50重量部、低温生育乳酸菌の湿菌体の30重量%懸濁液を1重量部からなる生地をあらかじめ15～20℃、好ましくは20℃、8時間以上発酵させた種生地30重量部を加えてミキシングし、25℃2時間乃至4時間発酵させた生地中の遊離アミノ酸含量を測定することで明らかになり、生地中の遊離のLグルタミン酸量を600マイクロモル/kgとせしめる。

【0018】生地中の総遊離アミノ酸含量はアミノ酸アナライザーでの測定が可能であり、総遊離アミノ酸、遊離のLグルタミン酸、遊離の疎水性アミノ酸（アロリン、アラニン、バリン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、チロシン、フェニルアラニンを総称して疎水性アミノ酸という）の測定ができる。個別の遊離のLグルタミン酸のみを定量するときは市販のアミノ酸測定キット（F-kit（J. K. インターナショナル社製））などを用いても良い。

【0019】パン生地中の総遊離アミノ酸と遊離のLグルタミン酸、遊離の疎水性アミノ酸との関係については、総遊離アミノ酸の中には風味や味に対しての寄与率の高いアミノ酸、例えば遊離のLグルタミン酸や遊離の疎水性アミノ酸などと、比較的寄与率の低いアミノ酸類とがあるが、当然のことながら総遊離アミノ酸が多ければ遊離のLグルタミン酸や遊離の疎水性アミノ酸などの好ましいアミノ酸類も多くなることが想定できる。本発明では、穀物粉、水、乳酸菌湿菌体からなるパン生地を15～25℃、好ましくは20℃、18時間以上発酵させた時に、総遊離アミノ酸量が8000マイクロモル/kg以上、遊離のLグルタミン酸量が1000マイクロモル/kg以上、または遊離の疎水性アミノ酸量が5000マイクロモル以上/kgのいずれかの要件が満足されていればよい。

【0020】なお、上記のような遊離アミノ酸を含有する本発明のパン生地は、これを直ちに焼成してパン類にすることもできるし、「冷凍生地法」といわれるように生地を一旦冷凍させた後に解凍、発酵、焼成する方法も可能である。

【0021】

【実施例】（実施例1）我が国の伝統的清酒醸造で醸される“きもと”から分離された低温生育乳酸菌ラクトバ

チルス・サケアイ（*Lactobacillus sakei*）JCM1157株を用いて、25%米麹汁改変培地（Brix. 10%米麹汁25%、酵母エキス0.5%、ポリペプトン1%、グルコース2%、肉エキス1%、酢酸ナトリウム0.5%、リン酸水素2カリウム及びクエン酸3ナトリウム各0.2%）で培養を行った。比較例として、伝統的な種からの分離例が多く、かつ生地に用いたときに遊離の総アミノ酸量を多く生成するといわれている代表的な乳酸菌2種（ラクトバチルス・ヒルガルディ（*Lactobacillus hilgardii*）JCM1155株、ラクトバチルス・プラントラム（*Lactobacillus plantarum*）JCM8348株）を用いた実験区（比較例1-1、1-2）と、乳酸菌湿菌体無添加区（比較例1-3）を作成した。

【0022】25%米麹汁改変培地10mlに植菌後30℃、24時間培養を行い、同培地800mlに移植し、30℃、48時間静置培養を行い、4℃、10,000rpm、10分遠心分離後、殺菌済み冷生理食塩水で水洗を行って、湿菌体を得た。

【0023】強力粉66、7重量部、ライ麦粉33、3重量部、水53重量部、湿菌体2重量部からなる生地を20℃で捏ね上げ、20℃で0時間、12時間、18時間、24時間発酵させた後に、生地中の総遊離アミノ酸量を測定した。

【0024】生地中の総遊離アミノ酸量の測定は下記の方法によった。

1. 生地10.0gをブレンダーカップ内にとり、総量40ml～50mlになるように75%エタノールを加え、ホモゲナイズする（10,000rpmで1分後15,000rpmで1分）。
2. 上清を遠沈管にとり、残さに75%エタノールを20ml加え、よく攪拌して、ホモゲナイズする（10,000rpmで1分後15,000rpmで1分）。
3. 上清を遠沈管にとり、もう1度残さ洗浄操作を繰り返す。
4. 全量を遠沈管にとり、ブレンダーカップを75%エタノールで洗浄し、洗浄液を遠沈管にとる。
5. 遠心機にかけ（10,000rpm 10分）、上清を100mlメスフラスコにとり、75%エタノールにて遠沈管内部の洗浄後メスアップする。
6. 50mlナス型フラスコに移し、ロータリーエバポレーターを用いてエタノールを完全にとばす。
7. 50mlメスフラスコに溶液を取り、蒸留水にてナス型フラスコの内部を洗浄後、メスアップする。
8.  $\phi 0.45\mu\text{m}$ のフィルターでろ過後にアミノ酸アナライザーにかける。

【0025】表1に総遊離アミノ酸量の経時変化、表2に遊離のLグルタミン酸量の経時変化、表3に遊離の疎水性アミノ酸量の経時変化を示す。

【0026】

【表1】

表1 遊離アミノ酸量の経時変化 ( $\mu\text{mol/kg}$ )

(時間)	0	12	18	24
実施例1(ラクトバチルス・サケアイJCM1157)	2650	6540	9140	10030
比較例1-1(ラクトバチルス・ヒルガルディJCM1155)	2110	4390	4470	5580
比較例1-2(ラクトバチルス・プランタラムJCM8348)	2070	2840	4120	4550
比較例1-3(乳酸菌湿菌体無添加)	2530			4230

【0027】

【表2】

表2 遊離のLグルタミン酸量の経時変化 ( $\mu\text{mol/kg}$ )

(時間)	0	12	18	24
実施例1(ラクトバチルス・サケアイJCM1157)	240	760	1050	1178
比較例1-1(ラクトバチルス・ヒルガルディJCM1155)	240	730	710	830
比較例1-2(ラクトバチルス・プランタラムJCM8348)	210	470	610	620
比較例1-3(乳酸菌湿菌体無添加)	250			130

【0028】

【表3】

表3 遊離の疎水性アミノ酸量の経時変化 ( $\mu\text{mol/kg}$ )

(時間)	0	12	18	24
実施例1(ラクトバチルス・サケアイJCM1157)	1300	3810	5330	6020
比較例1-1(ラクトバチルス・ヒルガルディJCM1155)	890	1980	2040	2820
比較例1-2(ラクトバチルス・プランタラムJCM8348)	970	1180	1980	2230
比較例1-3(乳酸菌湿菌体無添加)	1050			2390

【0029】表1～3に示すように、実施例のラクトバチルス・サケアイ (*Lactobacillus sakei*) JCM1157株を添加したパン生地は、比較例のラクトバチルス・ヒルガルディ (*Lactobacillus hilgardii*) JCM1155株、ラクトバチルス・プランタラム (*Lactobacillus plantarum*) JCM8348株を添加したパン生地や、乳酸菌湿菌体無添加のパン生地と比べ、18時間発酵後に、生地中の総遊離アミノ酸量が8000マイクロモル/kg以上、遊離のLグルタミン酸量が1000マイクロモル/kg以上、遊離の疎水性アミノ酸量が5000マイクロモル/kg以上と高くなっていることがわかる。

【0030】(実施例2) 実施例1と同様にして得た乳酸菌湿菌体を用いて、強力粉100重量部、塩2重量部、水65重量部、酵母2重量部、モルト1重量部に、強力粉100重量部、水50重量部、乳酸菌湿菌体の30重量%懸濁液を1重量部からなる生地をあらかじめ20℃、8時間発酵させた種生地30重量部を加えてミキシングし、25℃で7時間発酵させ、1時間毎の遊離のLグルタミン酸を測定した。比較例としてラクトバチルス・ヒルガルディ (*Lactobacillus hilgardii*) JCM1155株を用いた。結果を表4に示す。

【0031】

【表4】

表4 遊離のLグルタミン酸量の経時変化 ( $\mu\text{mol/kg}$ )

(時間)	0	1	2	3	4	5	6	7
実施例2(ラクトバチルス・サケアイJCM1157)	510	510	650	720	740	580	480	370
比較例2(ラクトバチルス・ヒルガルディJCM1155)	450	420	480	510	570	580	590	590

【0032】表4に示すとおり、実施例のラクトバチルス・サケアイ (*Lactobacillus sakei*) JCM1157株を添加したパン生地は、2時間乃至4時間発酵させた時に、600マイクロモル/kg以上の遊離のLグルタミン酸を生成していることがわかる。

【0033】(実施例3) 実施例1と同様にして得た乳酸菌湿菌体を用いて、強力粉100重量部、塩2重量部、水65重量部、酵母2重量部、モルト1重量部に、強力粉100重量部、水50重量部、乳酸菌湿菌体の30重量%懸濁液を1重量部からなる生地をあらかじめ20℃、8時間発酵させた種生地30重量部を加えてミキシングし、25℃で4時間発酵させた後、焼成してパンとし、その風味を官能評価した。比較例としてラクトバチルス・ヒルガルディ (*Lactobacillus hilgardii*) JCM1155株を用いた。結果を表5に示す。

【0034】

【表5】

!(7) 003-116454 (P2003-116454A)

表5 パンの官能評価結果

(時間)	風味	うま味
実施例3(ラクトバチルス・サケアイJCM1157)	◎	◎
比較例3(ラクトバチルス・ヒルガルディJCM1155)	△	△

◎：非常に良好

○：良好

△：やや劣る

×：劣る

【0035】表5に示すとおり、実施例のラクトバチルス・サケアイ (Lactobacillus sakei) JCM1157 株を用いて製造したパンは、風味、うま味とも非常に良好であった。

【0036】

【発明の効果】本発明によれば、低温生育乳酸菌ラクト

バチルス・サケアイ (Lactobacillus sakei) 等を製パン時に用いることにより、パン生地中の遊離アミノ酸量が増大し、乳酸菌の培養に特殊な培地を必要としたりパンの生産時に特殊な冷蔵設備を必要とすることなく、香りが良く、食したときにコクとうま味のある風味の良好なパン類を容易に製造することができる。

フロントページの続き

(72)発明者 岡田 寿  
広島県広島市安芸区畑賀2-15-20

(72)発明者 鍛冶谷 孝  
広島県広島市安芸区中野東5丁目8-3-14

(72)発明者 高木 誠一  
東京都文京区本郷1-27-8-1002  
Fターム(参考) 4B032 DB01 DG05 DK59 DL06